

Nuevo registro de *Ulva australis* (Ulvaceae, Chlorophyta) en el norte de Chile

A new record of *Ulva australis* (Ulvaceae, Chlorophyta) from northern Chile

Marta Oróstica¹, Martha S. Calderon^{3,4}, Sung Min Boo³,
Carolina Sandoval¹ y Mario Edding^{1,2*}

¹Departamento de Biología Marina, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Larrondo 1281, Coquimbo, Chile

²Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Algas (CIDTA), Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Larrondo 1281 Coquimbo, Chile. *medding@ucn.cl

³Department of Biology, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea

⁴Escuela de Ingeniería Ambiental, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza, Chachapoyas, Perú

Abstract.- The diversity of the genus *Ulva* in South American waters is matter of debate. Specimens of *Ulva* sp. were collected in northern Chile and analyzed using sequences of *rbcL* and *tufA* genes in combination with morphological observations. Molecular analyses revealed the presence of *Ulva australis*, a native species from northeast Asia that has also been recently recorded in southern Chile. Based on these results, an extension of the geographical distribution of *U. australis* toward northern Chile is reported.

Key words: Geographical extension, *Ulva australis*, morphology, green algae

INTRODUCCIÓN

Las especies del género *Ulva* Linnaeus son cosmopolitas y se distribuyen ampliamente habitando todos los océanos del mundo. En Chile se han registrado 14 especies de *Ulva* (Guiry & Guiry 2017), basándose principalmente en características morfológicas, siendo *Ulva lactuca* Linnaeus y *Ulva rigida* Agardh las especies más ampliamente distribuidas en el país (Ramírez & Santelices 1991).

La taxonomía tradicional de *Ulva* se ha basado en características morfológicas como la forma y tamaño del talo, presencia/ausencia de dientes marginales, dimensiones celulares y número de pirenoides (Guiry & Guiry 2017). Sin embargo, muchos estudios han demostrado que estas características son altamente variables (Zhang *et al.* 2013, Wichard *et al.* 2015, Gao *et al.* 2016), por lo que la identificación a nivel de especies ha sido particularmente difícil debido a la alta variabilidad morfológica y plasticidad fenotípica intraespecífica. En ese contexto, es fundamental el uso de herramientas complementarias como las técnicas moleculares, las cuales han tenido éxito en identificación de especies de *Ulva* (Baamondes *et al.* 2007, Aguilar-Rosas *et al.* 2008).

El 'DNA barcode' es una herramienta taxonómica que fue primeramente utilizada en macroalgas por Saunders (2005) quien demostró que el gen mitocondrial COI (Citocromo Oxidasa I) puede ser usado como un marcador poderoso en la identificación de especies de algas rojas. Sin embargo, en algas

verdes el gen COI ha resultado ser el menos aplicable (Hall *et al.* 2010). Para el DNA barcode en algas verdes otros marcadores moleculares han sido utilizados, como el gen cloroplastidial de la subunidad grande de la RuBisco (*rbcL*), espaciadores nucleares (ITS) y el gen del cloroplasto codificante del factor de elongación (*tufA*) (Hall *et al.* 2010, Vieira *et al.* 2016). El DNA barcode combinado con análisis morfológicos de estructuras reproductivas y vegetativas es una metodología eficaz para la clarificación de especies en aplicación a las algas verdes (Flagella *et al.* 2010).

Durante un estudio de comunidades algales en las costas del norte de Chile, se encontró una especie de *Ulva* creciendo en el intermareal rocoso y sobre el mitflido *Perumytilus purpuratus* Lamarck, 1819. El análisis de las características morfológicas en el material recolectado no resultó corresponder con las descripciones de las especies de *Ulva* registradas a la fecha para esta área (Ramírez & Santelices 1991, Hoffmann & Santelices 1997). En consecuencia, el objetivo del presente estudio fue identificar la especie de *Ulva* recolectada en la zona litoral del norte de Chile utilizando una combinación de análisis morfológicos y moleculares.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de *Ulva* fueron recolectadas en el intermareal rocoso durante el periodo del 27/11/2012 al 2/07/2016. Las

colectas incluyeron 5 localidades de la costa de Iquique: Playa Huayquique (20°16'18,26"S; 70°7'53,59"O), Península de Cavancha (20°14'18,74"S; 70°9'1,58"O), Playa Cavancha (20°13'23,60"S; 70°9'8,69"O), Sur Intendencia Regional (20°13'10,78"S; 70°9'17,18"O) y Playa Bellavista (20°13'1,39"S; 70°9'23,78"O). Los talos fueron recolectados manualmente, y una vez limpios de epifitos se preservaron en herbarios y sílica gel para el posterior análisis morfológico y molecular, respectivamente. El material herborizado fue incorporado a los expedientes de muestreo y de colecta del Sistema de Catalogación de muestras del herbario institucional de la Universidad Católica del Norte (UNCOQ registrado en el Index Herbariorum¹) y al Museo Nacional de Historia Natural de Santiago, Chile, designados como: SGO 166592, SGO 166593, SGO 166594 y SGO 166595. Además, material herborizado de *Ulva* fue analizado desde la colección de botánica del Museo Nacional de Historia Natural de Santiago.

El análisis morfológico se realizó usando caracteres taxonómicos claves, macro y microscópicos (tamaño y forma del talo, características del tejido celular, tamaño y forma de la células, posición del cloroplasto). Para las estructuras microscópicas, se realizaron cortes transversales y longitudinales a mano alzada en distintas partes del talo (ápice, medio y base). Algunas muestras fueron teñidas con azul de anilina al 1%, fijadas con HCl al 1% y montadas permanentemente en Syrup (Karo®). Las muestras fueron observadas en un microscopio de luz transmitida (Olympus®, modelo CX131) y en una lupa estereoscópica (Olympus®, modelo SZ31), y posteriormente fotodocumentadas con cámara fotográfica digital acoplada (Canon® S50).

Para el análisis molecular, el gen cloroplastidial *rbcL* y el gen *tufA* fueron secuenciados en 15 y 9 individuos de *Ulva*, respectivamente. El ADN genómico fue extraído de 5 mg de alga seca molida con nitrógeno líquido usando NucleoSpin II Kit (Macherey-Nagel, Düren, Alemania) según protocolo del fabricante y preservado en un refrigerador a 4°C. Para el gen *rbcL* se utilizaron los partidores RH1 (5'-ATGTCACCACAAACAGAACTAAAGC-3') (Manhart 1994) y el recién diseñado R880 (5'-CRATMACTGCRTGCATAGCACG GTG-3'), mientras que para el gen *tufA* fueron utilizados los partidores *tufAF* (5'-TGAAACAGAAMAWCGTCATTAT GC-3') y *tufAR* (5'-CCTTCNCGAATMGCRAAWCGC-3') (Famá *et al.* 2002). Para la amplificación por PCR se usó el reactivo Master Mix que contiene todos los componentes para el PCR excepto los partidores y el ADN de la muestra. El volumen total fue 10 µL y consistió de 5 µL de Quick Taq™ HS DyeMix (TOYOBO Co., Tokio, Japón), 0,2 µL de cada partidador, 1 µL de ADN de la muestra y 3,6 µL de agua

destilada. La reacción se realizó en un termociclador C1000™ Thermal Cycler (Bio-Rad., California, EE.UU.) usando los siguientes parámetros: pre-denaturación a 94°C durante 2 min, seguido de 40 ciclos de 94°C durante 30 s (desnaturalización), 47°C durante 30 s (alineamiento) y 68°C durante 1 min (extensión). Un µL de cada producto PCR fue sometido a electroforesis en geles de agarosa al 1,6% y fueron purificados utilizando la enzima ExoSAP-IT (USB Corporation, Cleveland, OH, EE.UU). El reactivo ExoSAP-IT fue utilizado, se añadió 2 µL directamente al producto de PCR y fue incubado primero a 37°C durante 15 min y luego a 80°C durante 15 min. Las secuencias de la cadena delantera y reversa de los genes *rbcL* y *tufA* fueron secuenciadas comercialmente (Genotech, Daejeon, Corea). Los electroferogramas se editaron utilizando el programa Chromas v1.45 (McCarthy 1998). Un total de 24 secuencias han sido generadas y depositadas en la base de datos de secuencias genéticas del GenBank (NCBI) (Supl.1).

Para el análisis filogenético, las secuencias fueron alineadas usando el algoritmo MUSCLE implementado en el programa MEGA5 v.6.06 (Tamura *et al.* 2013). La selección del mejor modelo de sustitución nucleotídica se llevó a cabo usando el programa PartitionFinder (Lanfear *et al.* 2012), utilizando la opción de mejor estrategia de partición y el Bayesian Information Criterion (BIC) como modelo de secuencia de evolución. El modelo general de tiempo reversible con distribución gamma y proporción de sitios invariables (GTR + Γ + I) fue seleccionado para los análisis de ambos genes. Los árboles filogenéticos *rbcL* y *tufA* fueron construidos mediante máxima similitud (ML). El análisis de máxima similitud se realizó utilizando el programa RAxML HPC-AVX (Stamatakis 2014) implementado en la interfaz raxmlGUI 1.3.1 (Silvestro & Michalak 2012), siendo el soporte evaluado por 1000 bootstraps rápidos.

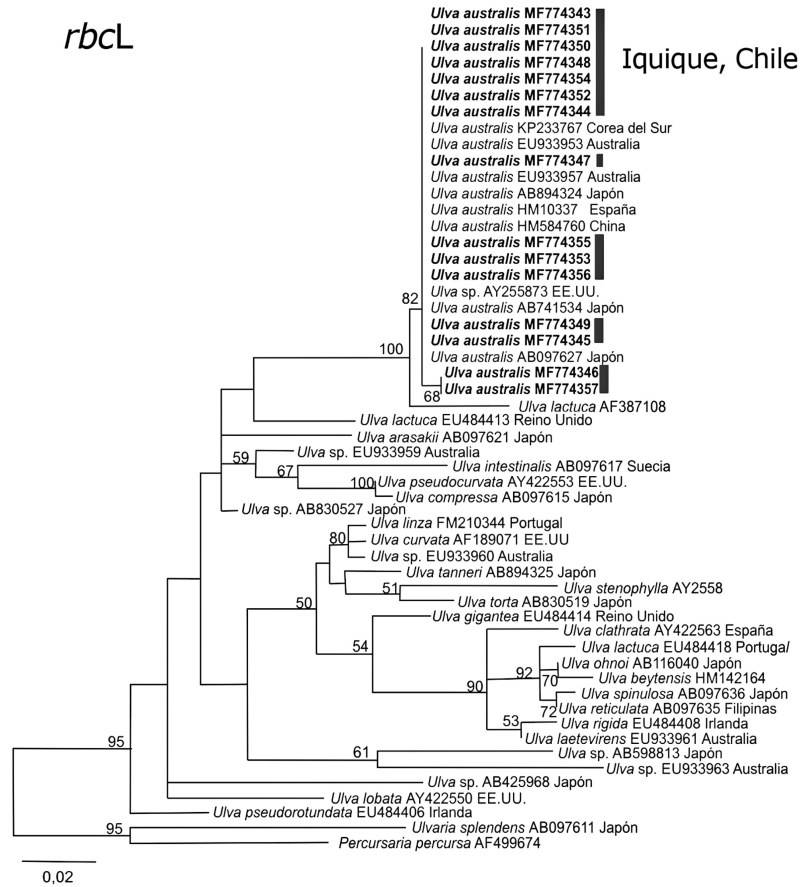
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ANÁLISIS MOLECULAR

El análisis de filogenia molecular del gen *rbcL* incluyó un total de 54 especies y 769 pb (caracteres), de los cuales 59 fueron filogenéticamente informativos, siendo *Ulvaria splendens* (Ruprecht) K.L.Vinogradova y *Percursaria percursa* (C.Agardh) Rosenvinge usados como grupo externo (Hayden *et al.* 2003). Para el gen *tufA*, el análisis incluyó un total de 41 especies y 753 pb (caracteres), de los cuales 124 fueron filogenéticamente informativos, siendo *Percursaria percursa*, *Umbraulva japonica* (Holmes) Bae & I.K.Lee y *Ulvaria obscura* (Kützing) Gayral ex Bliding usados como grupo externo (Kirkendale *et al.* 2013). La filogenia inferida del alineamiento de las secuencias del gen *rbcL* y *tufA*, junto al bootstrap del análisis ML, se muestran en la Figura 1.

¹Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <<http://sweetgum.nybg.org/science/ih/>>

rbcl



tufA

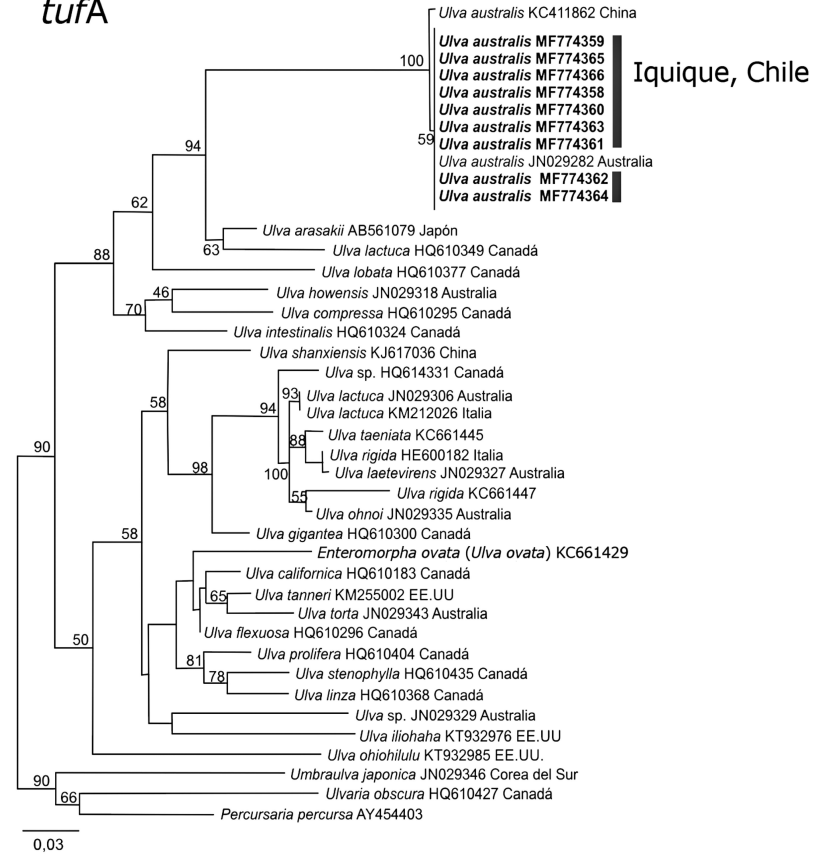


Figura 1. Árbol filogenético de secuencias *rbcl* (izquierda) y *tufA* (derecha) obtenidos por análisis de máxima similitud. Los valores de bootstrap (> 50%) se muestran junto a las ramas. En este estudio se generaron secuencias para los taxones en negrita. Escala= número de sustituciones por sitio / Phylogenetic tree of *rbcl* (left) and *tufA* (right) sequences obtained by maximum likelihood inference. Bootstrap values (> 50%) are indicated next to branches. Sequences for taxa in bold were generated in this study. Scale bar= number of substitutions per site

La filogenia obtenida concuerda con varios estudios realizados con anterioridad en este grupo (Kraft *et al.* 2010, Kirkendale *et al.* 2013, Spalding *et al.* 2016). Las relaciones filogenéticas entre las especies de *Ulva* están soportadas débilmente en ambos análisis; sin embargo, los especímenes provenientes de Iquique se ubicaron dentro del clado *Ulva australis* Areschoug, el cual mostró un alto valor de soporte en ambos análisis.

En el análisis del gen *rbcL*, sólo las poblaciones de *U. australis* de Chile (específicamente IQ082016 y IQ082013) variaron en un nucleótido de las otras poblaciones, las cuales tuvieron secuencias idénticas. Por otro lado, el porcentaje de divergencia de las secuencias *U. australis* y *U. lactuca* AF387108 fue 0,8%; de *U. australis* y *Ulva* sp. AB830527 fue 1,5%; de *U. australis* y *Ulva* sp. EU933959 fue 1,6%; y de *U. australis* y *Ulva lactuca* EU484413 fue 1,9%. Mientras tanto en el análisis del gen *tufA*, las poblaciones de *Ulva australis* de Chile y Australia tuvieron secuencias idénticas, y variaron en tres nucleótidos de la población de China. El porcentaje de divergencia de las secuencias de *U. australis* y *Ulva arasaki* Chihara fue 5,2%; de *U. australis* y *U. lactuca*, 6,3%; y de *U. australis* con *Ulva ofensas* (A.H.S.Lucas) Krafty y *Ulva intestinalis* Linnaeus fue 7%.

ANÁLISIS MORFOLÓGICO

Ulva australis Areschoug 1854: 370

Sinónimo heterotípico: *Ulva pertusa* Kjellman 1897: 4, pl. 1; pl. 3: figs. 1-8

Especímenes examinados: SGO 166592, SGO 166593, SGO 166594 y SGO 166595

Los especímenes analizados poseen un talo laminar membranoso, diestromático y su color varía desde un verde oscuro hasta un verde claro. El talo de 3-19 cm de alto, de forma variable desde pequeñas rosetas orbiculares a formas lobuladas. Se adhieren al sustrato mediante un pequeño disco formado por rizoides filamentosos incoloros. El talo posee márgenes suaves (carece de dientes microscópicos), con perforaciones de diferentes tamaños y formas. Cuando el individuo es adulto las perforaciones suelen juntarse y dividir el talo longitudinalmente. La zona basal del talo posee arrugas concéntricas alrededor del disco de adhesión, carácter morfológico considerado como propio de la especie (Fig. 2).

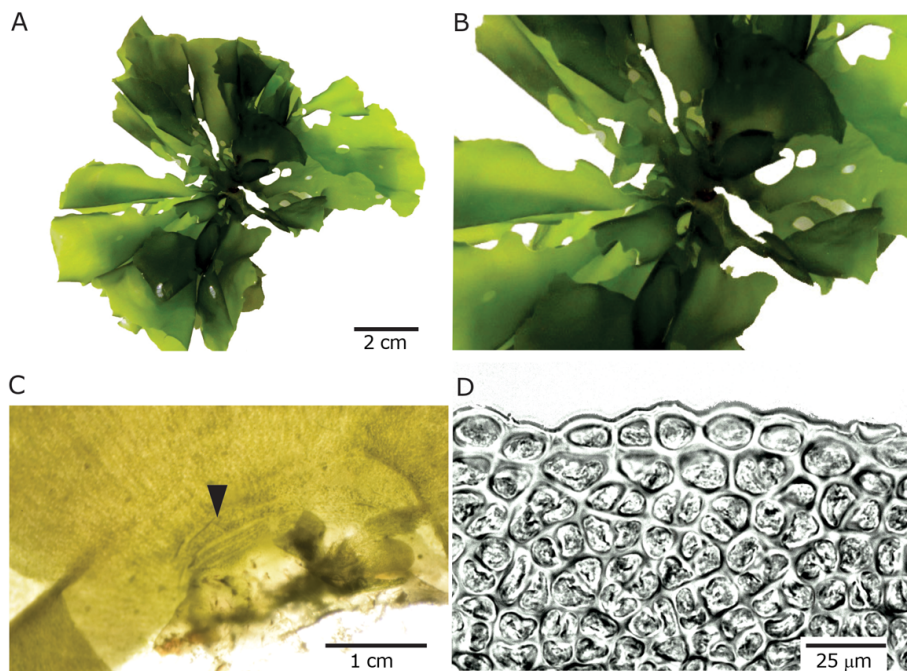


Figura 2. Morfología de *Ulva australis*. (A-B) Hábito, (C) disco de adhesión y zona basal con estrias concéntricas (flecha) y (D) vista superficial del margen de la lámina sin espinas / Morphology of *Ulva australis*. (A-B) Habit, (C) holdfast and basal zone with concentric wrinkles (arrowhead) and (D) surface view of blade margin without spines

En vista superficial, las células son poligonales con bordes redondeados, los arreglos celulares son irregulares o están regularmente ordenados en pequeños grupos. Las células poseen un único cloroplasto parietal con (1-) 2 (-3) pirenoides. En sección transversal los márgenes poseen 50-90 μm de grosor, el cual va aumentando hacia la base hasta los 350 μm de grosor. Las células arregladas en 2 filas, presentan predominantemente forma rectangular y la mayoría con bordes redondeados, generalmente el doble de largas respecto al ancho, con 13-15 μm de ancho por 25-27 μm de largo en los márgenes; 15-16 μm de ancho por 27-33 μm de alto en la zona media y 15-18 μm ancho por 23-27 μm de largo en la base (Fig. 3).

El análisis morfológico del material recolectado en este estudio es consistente con lo descrito para *U. australis* en Japón (Hiraoka *et al.* 2004), México (Aguilar-Rosas *et al.* 2008) y España (Baamondes *et al.* 2007). La presencia de perforaciones en el talo puede ser usado como un carácter para

distinguir a *U. australis*, sin embargo, se ha descrito que el número de perforaciones sobre el talo se correlaciona positivamente a la presencia de herbívoros que lo habitan (Choi *et al.* 2015). La presencia de arrugas concéntricas y la ausencia de espinas microscópicas marginales son caracteres que permiten diferenciar a *U. australis* de *U. rigida*, una de las especies más similares presente en las costas de Chile (Tabla 1).

La revisión de herbarios de *Ulva* depositados en el Museo Nacional de Historia Natural, muestran que *U. australis* fue previamente recolectada en las costas de Chile, pero identificada como *Ulva* sp. Las muestras de herbario de *U. australis* bajo los códigos SGO122261 y SGO096031, fueron recolectados en Caleta Horcón (32°S) en 1991 y en Mehuín (39°S) en 1980 respectivamente, sin embargo estos nunca fueron reportados en literatura.

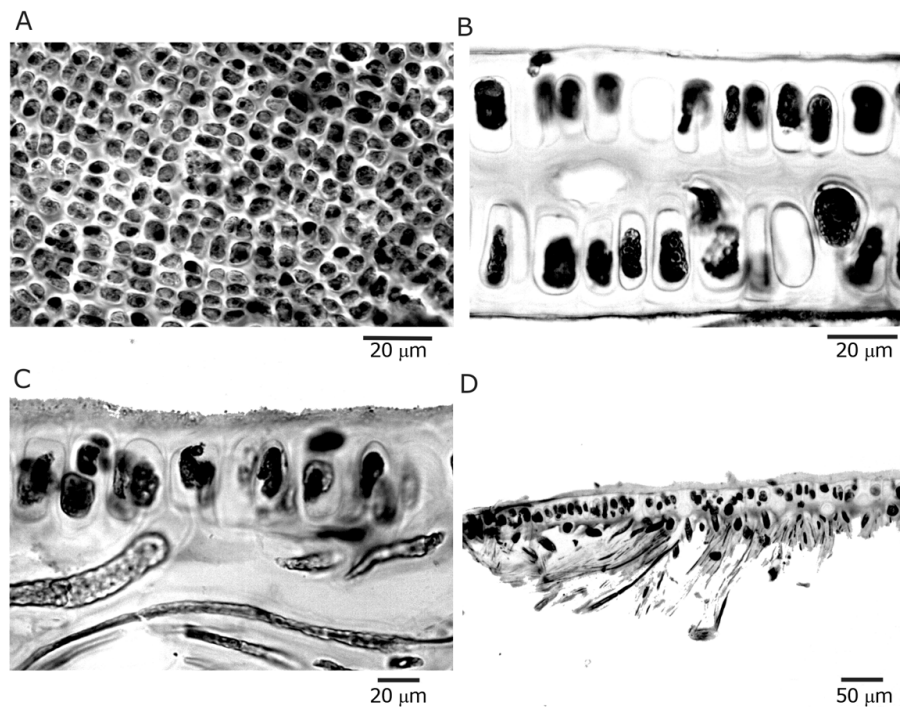


Figura 3. Morfología microscópica de *Ulva australis*. (A) Vista superficial de la lámina, las células sin arreglos celulares u ordenados en pequeños grupos, (B) sección transversal de la zona media del talo and (C-D) sección transversal del talo de la zona rizoidal basal / Microscopic morphology of *Ulva australis*. (A) Surface view, the cells lacking cellular ordering or ordered in small groups, (B) cross section of mid parts of thallus and (C-D) cross section of thallus in rhizoidal region

Tabla 1. Caracteres morfológicos claves de 4 especies de *Ulva* que habitan en las costas de Chile / Key morphological characters of 4 *Ulva* species inhabiting Chilean coasts

Especies	Hábito, color y forma del talo	Forma y ancho/alto de las células en sección transversal	Dientes microscópicos al margen del talo	Número de pirenooides	Estrías concéntricas en el disco de adhesión
<i>Ulva australis</i>	Talo laminar, con perforaciones de diferentes tamaños y formas, cuando el individuo es adulto las perforaciones suelen juntarse y dividir el talo longitudinalmente. La zona basal del talo posee arrugas concéntricas alrededor del disco de adhesión	Rectangulares con bordes redondeados. Doble de largas respecto a anchas. 15-16 µm de ancho por 27-33 µm de alto	Ausentes	1-3	Presentes
<i>Ulva lactuca</i>	Talo laminar, verde claro y de forma ovalada a lanceolada	Cuadradas de 15-20 µm de alto y 10-25 µm de ancho	Ausentes	1-3	Ausentes
<i>Ulva lobata</i>	Talo laminar, verde oscuro y forma lobulada con márgenes ondulados	Verticalmente elongadas, casi dos veces más altas que anchas	Ausentes	1	Ausentes
<i>Ulva rigida</i>	Talo laminar, verde oscuro y forma orbicular, más ancho que alto	Principalmente elongadas y ocasionalmente cuadradas. De 15-45 µm de alto y 10-15 µm de ancho	Presentes	1-2	Ausentes

Ulva australis es una especie nativa del Pacífico de Asia, pero que formalmente se conoce como *U. pertusa* Kjellman (ahora en sinonimia). Se han reportado poblaciones de *U. australis* en las costas templadas de los océanos Pacífico, Atlántico y el mar Mediterráneo, no distribuyéndose en regiones tropicales (Hanyuda *et al.* 2016). La introducción de la especie en las costas del Pacífico americano fue reportada primero en California por Hayden & Waaland (2004) (como *U. pertusa*), luego para la costas de México por Aguilar-Rosas *et al.* (2008) (como *U. pertusa*) y por último en el sur de Chile por Hanyuda *et al.* (2016). Sin embargo, se hace mención de herbarios antiguos en donde *U. australis* fue recolectada en México en 1978 (Aguilar-Rosas *et al.* 2008), pero registrada como *U. rigida* o *U. lactuca*, misma situación para los registros de *Ulva australis* desde Horcón y Mehuín en Chile. Esto hace referencia a que la distribución podría ser más amplia y continua de lo registrado hasta el momento en el Pacífico americano.

En Chile, *U. australis* sólo se ha registrado (como *U. pertusa*) para la localidad de Puerto Montt (41°S) a través de análisis moleculares (Hanyuda *et al.* 2016), por lo tanto en este estudio se extiende el rango de distribución en 2.300 km hacia el norte de Chile (Iquique). Se incluyen las muestras desde la localidad de Horcón y Mehuín a partir de antiguos herbarios y además se realizan descripciones morfológicas.

Podría considerarse a *Ulva australis* como un nuevo caso de especie introducida para Chile. Mundialmente, uno de los vectores de introducción de larga dispersión en el océano, está relacionado a la presencia de esporas o gametos en agua de lastre o a la especie como parte del fouling en embarcaciones (Hewitt *et al.* 2007, Castilla & Neill 2009, Mineur *et al.* 2008, Mathieson 2016). En Chile el arribo del 30-38% del total de especies marinas introducidas, está asociado a introducción por barcos (Castilla & Neill 2009). Considerando, que solo en 2015 en el puerto de Iquique recalieron 460 buques (Empresa Portuaria Iquique 2017)², incluyendo cargueros asiáticos, se podría considerar como el vector más probable de introducción. Además, *U. australis* posee características biológicas que le permiten ser transportada en el fouling o agua de lastre, como es el gran potencial reproductivo y alta tolerancia a cambios ambientales (Einav *et al.* 1995, Kim *et al.* 2004). De 15 especies de macroalgas registradas como introducidas (Castilla & Neill 2009), solo a dos especies (*Codium fragile* subsp. *fragile* (Suringar) Hariot y *Asparagopsis armata* Harvey) se le han atribuidos efectos negativos, principalmente en el cultivo de *Gracilaria* Greville (Castilla *et al.* 2005). Otras como *Mastocarpus papillatus* (Agardh) Kützinger han sido consideradas como un nuevo recurso de explotación (Castilla

²Empresa Portuaria Iquique. 2017. <info@epi.cl> <www.epi.cl>

et al. 2005). En las costas de Chile, no se han determinado los efectos de la introducción de *U. australis* sobre las comunidades nativas, lo que podría ser examinado en futuras investigaciones.

Ulva australis es una especie que ocasionalmente forma 'mareas verdes' o 'blooms' de algas (Hiraoka *et al.* 2004, Zhang *et al.* 2013). Su rápido crecimiento y alta capacidad reproductiva facilitan la acumulación de biomasa, que ocurre principalmente por la eutrofización del ambiente debido a actividades antropogénicas (Park 2014). A pesar de ser una especie invasora, las investigaciones han demostrado una serie de aplicaciones y posibles efectos positivos de las especies del género *Ulva*, en los ambientes y comunidades donde crecen, como por ejemplo, fuentes de compuestos bioactivos (Yingying *et al.* 2015) y/o como bioindicadores de eutrofización o presencia de metales pesados de las zonas costeras (Boubonari *et al.* 2008, Maloney *et al.* 2011). Por lo tanto, *U. australis* es una especie que puede suscitar efectos negativos o positivos, pero es necesario comprender la dinámica poblacional y determinar los efectos que tiene la especie sobre las comunidades marinas nativas.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la colaboración del Dr. Paul Silva y Dr. Max Chacana del University Herbarium, University of California, Berkeley, California. También agradecemos la participación del Laboratory of Algal Diversity and Evolution, Chungnam National University, Korea y Laboratorio de Botánica Marina de la Universidad Católica del Norte. Finalmente, agradecemos a CONICYT por el financiamiento del Proyecto FONDEF D10I1038/UCN Red de información en biodiversidad para orientar las prioridades de investigación científica en apoyo a las políticas públicas ambientales.

LITERATURA CITADA

- Aguilar-Rosas R, L Aguilar-Rosas & S Shimada. 2008.** First Record of *Ulva pertusa* Kjellman (Ulvales, Chlorophyta) in the Pacific Coast of Mexico. *Algae* 23: 201-207.
- Baamondes S, I Fernández, R Lozano & J Ugarte. 2007.** Is the cryptic alien seaweed *Ulva pertusa* (Ulvales, Chlorophyta) widely distributed along European Atlantic coasts? *Botanica Marina* 50: 267-274.
- Boubonari T, P Malea & T Kevrekidis. 2008.** The green seaweed *Ulva rigida* as a bioindicator of metals (Zn, Cu, Pb and Cd) in a low-salinity coastal environment. *Botanica Marina* 51: 472-484.
- Castilla J & P Neill. 2009.** Marine bioinvasions in the Southeastern Pacific: status, ecology, economic impacts, conservation and management. In: Rilov G & JA Crooks (eds). *Biological invasions in marine ecosystems*, pp. 439-457. Springer, Berlin.
- Castilla J, M Uribe, N Bahamondes, M Clarke, R Desqueyroux-Faúndez, I Kong, H Moyano, N Rozbaczylo, B Santelices, C Valdovinos & P Zavala. 2005.** Down under the southeastern Pacific: marine non-indigenous species in Chile. *Biological Invasion* 7: 213-232.
- Choi H, B Kim, S Park, J Heo, C Kim, Y Kim & K Nam. 2015.** Effects of wave action and grazers on frond perforation of the green alga, *Ulva australis*. *Algae* 30: 59-66.
- Einav R, S Breckle & S Beer. 1995.** Ecophysiological adaptation strategies of some intertidal marine macroalgae of the Israeli Mediterranean coast. *Marine Ecology Progress Series* 125: 219-228.
- Famá P, B Wysor, W Kooistra & G Zuccarello. 2002.** Molecular phylogeny of the genus *Caulerpa* (Caulerpales, Chlorophyta) inferred from chloroplast *tufA* gene. *Journal of Phycology* 38: 1040-1050.
- Flagella M, N Andreakis, M Hiraoka, M Verlaque & M Buia. 2010.** Identification of cryptic *Ulva* species (Chlorophyta, Ulvales) transported by ballast water. *Journal of Biological Research-Thessaloniki* 13: 47-57.
- Gao G, Z Zhong, X Zhou & J Xu. 2016.** Changes in morphological plasticity of *Ulva prolifera* under different environmental conditions: A laboratory experiment. *Harmful Algae* 59: 51-58.
- Guiry M & M Guiry. 2017.** Algaebase. World-wide Electronic Publication, National University of Ireland, Galway. <<http://www.algaebase.org>>
- Hall J, K Fuèiková, C Lo, LA Lewis & KG Karol. 2010.** An assessment of proposed DNA barcodes in freshwater green algae. *Cryptogamie Algologie* 4: 529-555.
- Hanyuda T, S Heesch, W Nelson, J Sutherland, S Arai, S Boo & H Kawai. 2016.** Genetic diversity and biogeography of native and introduced populations of *Ulva pertusa* (Ulvales, Chlorophyta). *Phycological Research* 64: 102-109.
- Hayden H & J Waaland. 2004.** A molecular systematic study of *Ulva* (Ulvales, Ulvales) from the northeast Pacific. *Phycologia* 43(4): 364-382.
- Hayden H, J Blomster, C Maggs, P Silva, M Stanhope & J Waaland. 2003.** Linnaeus was right all along: *Ulva* and *Enteromorpha* are not distinct genera. *European Journal of Phycology* 38(3): 277-294.
- Hewitt C, M Campbell & B Schaffelke. 2007.** Introductions of seaweeds: Accidental transfer pathways and mechanisms. *Botanica Marina* 50: 326-337.
- Hiraoka M, S Shimada, M Uenosono & M Masuda. 2004.** A new green-tide-forming alga, *Ulva ohnoi* Hiraoka *et Shimada* sp. nov. (Ulvales, Ulvophyceae) from Japan. *Phycological Research* 52: 17-29.
- Hoffmann A & B Santelices. 1997.** Flora marina de Chile central, 434 pp. Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago.

- Kim K, T Choi, J Kim, T Han, H Shin & D Garbary. 2004.** Physiological ecology and seasonality of *Ulva pertusa* on a temperate rocky shore. *Phycologia* 43: 483-492.
- Kirkendale L, G Saunders & P Winberg. 2013.** A molecular survey of *Ulva* (Chlorophyta) in temperate Australia reveals enhanced levels of cosmopolitanism. *Journal of Phycology* 49(1): 69-81.
- Kjellman F. 1897.** Marina chlorophyceer från Japan. Bihang Till Kongliga Svenska Vetenskaps-Akademiens Handlingar 23(11): 1-44.
- Kraft L, G Kraft & R Waller. 2010.** Investigations into southern Australian *Ulva* (Ulvophyceae, Chlorophyta) taxonomy and molecular phylogeny indicate both cosmopolitanism and endemic cryptic species. *Journal of Phycology* 46(6): 1257-1277.
- Lanfear R, B Calcott, S Ho & S Guindon. 2012.** Partition-Finder: Combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution* 29(6): 1695-1701.
- Maloney B, T Iliffe, F Gelwick & A Quigg. 2011.** Effect of nutrient enrichment on naturally occurring macroalgal species in six cave pools in Bermuda. *Phycologia* 50: 132-143.
- Manhart J. 1994.** Phylogenetic analysis of green plant *rbcL* sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 3(2): 114-127.
- Mathieson A. 2016.** Rapid assessment survey of fouling and introduced seaweeds from southern Maine to Rhode Island. *Rhodora* 118: 113-147.
- McCarthy C. 1998.** Chromas, version 1.45. School of Health Science. Griffith University. Southport (Australia). <<http://technelysium.com.au/chromas>>
- Mineur F, M Johnson & C Maggs. 2008.** Macroalgal introductions by hull fouling on recreational vessels: Seaweeds and sailors. *Environmental Management* 42: 667-676.
- Park S. 2014.** Seasonal patterns and recruitment dynamics of green tide-forming *Ulva* species along the intertidal rocky shores of the southern coast of Korea. *Ocean Science Journal* 49: 383-390.
- Ramírez ME & B Santelices. 1991.** Catálogo de las algas marinas bentónicas de la costa temperada del Pacífico de Sudamérica, 437 pp. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago.
- Saunders G. 2005.** Applying DNA barcoding to red macroalgae: a preliminary appraisal holds promise for future applications. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London, Biological Science* 360: 1879-1888.
- Silvestro D & I Michalak. 2012.** RaxmlGUI: a graphical frontend for RAxML. *Organisms Diversity & Evolution* 12: 335-337.
- Spalding H, K Conklin, C Smith, C O'Kelly & A Sherwoods. 2016.** New Ulvaceae (Ulvophyceae, Chlorophyta) from mesophotic ecosystems across the Hawaiian Archipelago. *Journal of Phycology* 52(1): 40-43.
- Stamatakis A. 2014.** RAxML Version 8: A tool for phylogenetic analysis and post analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312-1313.
- Tamura K, G Stecher, D Peterson, A Filipksi & S Kumar. 2013.** MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725-2729.
- Vieira H, I Bagatini, C Guinart & A Vieira. 2016.** *tufA* gene as molecular marker for freshwater Chlorophyceae. *Algae* 31: 155-165.
- Wichard T, B Charrier, F Mineur, J Bothwell, O De Clerck & J Coates. 2015.** The green seaweed *Ulva*: A model system to study morphogenesis. *Frontier in Plant Science* 6: 1-8.
- Ying-ying S, W Hui, G Gan-lin, P Yin-fang, Y Bin-lun & W Chang-hai. 2015.** Green alga *Ulva pertusa* -a new source of bioactive compounds with anti-algal activity. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 10351-10359.
- Zhang J, Y Huo, Z Zhang, K Yu, Q He, L Zhang, L Yang, R Xu & P He. 2013.** Variations of morphology and photosynthetic performances of *Ulva prolifera* during the whole green tide blooming process in the Yellow Sea. *Marine Environmental Research* 92: 35-42.

Recibido el 17 de julio de 2017 y aceptado el 8 de noviembre de 2017

Editor Asociado: Pilar Muñoz M.

Suplemento 1. Lista de especies utilizadas en el análisis filogenético, incluyendo lugar y fecha de colecta, y números de acceso en GenBank. Las secuencias generadas en este estudio están en negrita / List of species used in DNA analysis, collection site and GenBank accession numbers. The sequences generated in the present study are in bold

Especie	Información de colecta	<i>rbcL</i>	<i>tufA</i>
<i>Ulva australis</i> Areschoug	Sur Intendencia Regional, Iquique, Chile; 27 nov. 2012	MF774349	
<i>Ulva australis</i>	Sur Intendencia Regional, Iquique, Chile; 27 nov. 2012	MF774350	
<i>Ulva australis</i>	Sur Intendencia Regional, Iquique, Chile; 27 nov. 2012	MF774351	
<i>Ulva australis</i>	Sur Intendencia Regional, Iquique, Chile; 22 feb. 2013	MF774352	
<i>Ulva australis</i>	Sur Intendencia Regional, Iquique, Chile; 22 feb. 2013		MF774364
<i>Ulva australis</i>	Sur Intendencia Regional, Iquique, Chile; 22 feb. 2013	MF774353	
<i>Ulva australis</i>	Sur Intendencia Regional, Iquique, Chile; 22 feb. 2013	MF774354	
<i>Ulva australis</i>	Playa Bellavista, Iquique, Chile; 09 mar. 2013		MF774365
<i>Ulva australis</i>	Playa Bellavista, Iquique, Chile; 09 mar. 2013	MF774355	
<i>Ulva australis</i>	Playa Bellavista, Iquique, Chile; 09 mar. 2013	MF774356	
<i>Ulva australis</i>	Playa Bellavista, Iquique, Chile; 09 mar. 2013		MF774366
<i>Ulva australis</i>	Playa Bellavista, Iquique, Chile; 09 mar. 2013	MF774357	
<i>Ulva australis</i>	Sur Intendencia sector 3, Iquique, Chile; 3 ago. 2016	MF774343	
<i>Ulva australis</i>	Sur Intendencia sector 3, Iquique, Chile; 3 ago. 2016		MF774358
<i>Ulva australis</i>	Sur Intendencia sector 3, Iquique, Chile; 3 ago. 2016		MF774359
<i>Ulva australis</i>	Sur Intendencia sector 3, Iquique, Chile; 3 ago. 2016	MF774344	
<i>Ulva australis</i>	Playa Cavancha, Iquique, Chile; 3 ago. 2016		MF774360
<i>Ulva australis</i>	Playa Cavancha, Iquique, Chile; 3 ago. 2016	MF774345	
<i>Ulva australis</i>	Playa Cavancha, Iquique, Chile; 4 ago. 2016		MF774361
<i>Ulva australis</i>	Playa Cavancha, Iquique, Chile; 4 ago. 2016	MF774346	
<i>Ulva australis</i>	Playa Cavancha, Iquique, Chile; 4 ago. 2016		MF774362
<i>Ulva australis</i>	Playa Cavancha, Iquique, Chile; 4 ago. 2016	MF774347	
<i>Ulva australis</i>	Playa Cavancha, Iquique, Chile; 4 ago. 2016		MF774363
<i>Ulva australis</i>	Playa Cavancha, Iquique, Chile; 4 ago. 2016	MF774348	
<i>Enteromorpha ovata</i> Thivy & Visalakshmi ex H.Joshi & V.Krishnamurthy	India		KC661429
<i>Ulva arasakii</i> Chihara	Miyagi, Shizugawa, Japón	AB097621	
<i>Ulva arasakii</i>	Playa Oarai, Ibaraki, Japón		AB561079
<i>Ulva australis</i>	Sada, España	HM103371	
<i>Ulva australis</i>	Queenscliff, Victoria, Australia	EU933957	
<i>Ulva australis</i>	Flinders, Victoria, Australia	EU933953	
<i>Ulva australis</i>	China		KC411862
<i>Ulva australis</i>	Parque Emu Beach Holiday, Australia Occidental, Australia		JN029282
<i>Ulva australis</i> (como <i>Ulva pertusa</i>)	Kanagawa, Yokohama, Japón	AB097627	
<i>Ulva australis</i> (como <i>Ulva pertusa</i>)	Yuchang, Qingdao, China	HM584760	
<i>Ulva australis</i> (como <i>Ulva pertusa</i>)	Playa Bukbu, Pohang, Corea del Sur	KP233767	
<i>Ulva australis</i> (como <i>Ulva pertusa</i>)	Kanagawa, Sajima, Japón	AB894324	
<i>Ulva australis</i> (como <i>Ulva pertusa</i>)	Kanagawa, Yokosuka, Japón	AB741534	
<i>Ulva beytensis</i> Thivy & Sharma	India	HM142168	
<i>Ulva californica</i> Wille	Muelle Sooke, Isla Vancouver, Canadá		HQ610283
<i>Ulva clathrata</i> (Roth) C.Agardh	Los Toruños, Cádiz, España	AY422563	
<i>Ulva compressa</i> Linnaeus	Nagasaki, Teguma, Japón	AB097615	
<i>Ulva compressa</i>	Playa Fundy, New Brunswick, Canadá		HQ610295
<i>Ulva curvata</i> (Kützinger) De Toni	Lewes, Delaware, EE.UU.	AF189071	
<i>Ulva flexuosa</i> Wulfen	Backeddy Resort, Columbia Británica, Canadá		HQ610296
<i>Ulva gigantean</i> (Kützinger) Bliding	Puerto Isaac Bay, Cornwall, Reino Unido	EU484414	
<i>Ulva gigantea</i>	Playa Fundy, New Brunswick, Canadá		HQ610300
<i>Ulva howensis</i> (A.H.S.Lucas) Kraft	Parque Emu Beach Holiday, Australia Occidental, Australia		JN029318

Suplemento 1. Continuación / Continued

Especie	Información de colecta	<i>rbcL</i>	<i>tufA</i>
<i>Ulva iliohaha</i> H.L.Spalding & A.R.Sherwood	Hawaii, EE.UU.		KT932976
<i>Ulva intestinalis</i> Linnaeus	Karlskrona, Suecia	AB097617	
<i>Ulva intestinalis</i>	Playa Fundy, New Brunswick, Canadá		HQ610324
<i>Ulva lactuca</i> Linnaeus	Faial, Azores, Portugal	EU484418	
<i>Ulva lactuca</i>	Algae Hole North, New South Wales, Australia		JN029306
<i>Ulva lactuca</i>	Lake Ganzirri, Messina, Italia		KM212026
<i>Ulva lactuca</i> Linnaeus	No información	AF387108	
<i>Ulva lactuca</i>	Lulworth Cove, Dorset, Reino Unido	EU484413	
<i>Ulva lactuca</i>	Playa Fundy, New Brunswick, Canadá		HQ610349
<i>Ulva laetevirens</i> Areschoug	Puerto Adelaide, Australia Meridional, Australia	EU933961	
<i>Ulva laetevirens</i>	Windy Harbour, Australia Occidental, Australia		JN029327
<i>Ulva linza</i> Linnaeus	Playa Armona, Algarve, Portugal	FM210344	
<i>Ulva linza</i>	Otter Point, Columbia Británica, Canadá		HQ610368
<i>Ulva lobata</i> (Kützinger) Harvey	San Simeon, California, EEUU	AY422550	
<i>Ulva lobata</i>	Bamfield, Columbia Británica, Canadá		HQ610377
<i>Ulva ohiohilulu</i> H.L.Spalding & A.R.Sherwood	Hawaii, EE.UU.		KT932985
<i>Ulva ohmoi</i> M.Hiraoka & S. Shimada	Kochi, Tosa, Japón	AB116040	
<i>Ulva ohmoi</i>	Cozy Corner, Australia Occidental, Australia		JN029335
<i>Ulva prolifera</i> O.F.Müller	Harrington Cove, New Brunswick, Canadá		HQ610404
<i>Ulva pseudocurvata</i> Koeman & Hoek	Newport Beach, California, EE.UU.	AY422553	
<i>Ulva pseudorotundata</i> Cormaci, G.Furnari & Alongi	Ballyvaughan, Clare, Irlanda	EU484406	
<i>Ulva reticulata</i> Forsskål	Islas de Cebu, Filipinas	AB097635	
<i>Ulva rigida</i> Agardh	Mar Adriatico, Italia		HE600182
<i>Ulva rigida</i>	India		KC661447
<i>Ulva rigida</i>	Killary Harbour, Galway, Irlanda	EU484408	
<i>Ulva shanxiensis</i> Chen, Feng & Xie	China		KJ617036
<i>Ulva</i> sp.	Newport Beach, California, EE.UU.	AY255873	
<i>Ulva</i> sp.	Apollo Bay, Victoria, Australia	EU933959	
<i>Ulva</i> sp.	Fukui, Obama, Japón	AB830527	
<i>Ulva</i> sp.	Puerto Macdonnell, Australia Meridional, Australia	EU933960	
<i>Ulva</i> sp.	Tokushima, Tokushima, Japón	AB598813	
<i>Ulva</i> sp.	Brunei Bay, Australia Occidental, Australia	EU933963	
<i>Ulva</i> sp.	Okinawa, Islas Ishigaki, Japon	AB425968	
<i>Ulva</i> sp.	Bamfield, Columbia Británica, Canadá		HQ610431
<i>Ulva</i> sp.	Hells Gates, Tasmania, Australia		JN029339
<i>Ulva spinulosa</i> Okamura & Segawa	Kochi, Fubenhama, Japón	AB097636	
<i>Ulva stenophylla</i> Setchell & N.L.Gardner	Seattle, Washington, EE.UU.	AY255874	
<i>Ulva stenophylla</i>	Playa Pachena, Columbia Británica, Canadá		HQ610435
<i>Ulva taeniata</i> (Setchell) Setchell & N.L.Gardner	India		KC661445
<i>Ulva tanneri</i> H.S.Hayden & J.R.Waaland	Kanagawa, Sajima, Japón	AB894325	
<i>Ulva tanneri</i>	Sea Lion Point South, California, EE.UU.		KM255002
<i>Ulva torta</i> (Mertens) Trevisan	Fukui, Mihama, Japón	AB830519	
<i>Ulva torta</i>	Snug Park, Tasmania, Australia		JN029343
Grupos externos			
<i>Percursaria percursa</i> (Agardh) Rosenvinge	University of Washington Culture Collection MA230	AF499674	
<i>Percursaria percursa</i>	University of Texas Culture Collection UTEX 1423		AY454403
<i>Umbraulva japonica</i> (Holmes) Bae & I.K.Lee	Rocky Reef en Punta Lighthouse, Isla Jeju, Corea del Sur		JN029346
<i>Ulvaria splendens</i> (Ruprecht) K.L.Vinogradova	Hokkaido, Oshoro, Japón	AB097611	
<i>Ulvaria obscura</i> (Kützinger) Gayral ex Bliding	Playa Fundy, New Brunswick, Canadá		HQ610427